

ОЛЕНЕВА В.Д.[✉], ЛИТВИН Д.И., ЕМЕЦ А.И., БЛЮМ Я.Б.

Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины,

Украина, 04123, г. Киев, ул. Осиповского, 2а, e-mail: olenieva.vira@gmail.com

[✉] olenieva.vira@gmail.com, (066) 018-81-17

ЭКСПРЕССИЯ КИНЕЗИНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РАЗВИТИЕ АУТОФАГИИ У *ARABIDOPSIS THALIANA*, И ВКЛАД АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ТУБУЛИНА ВО ВЗАМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКА ATG8 С МИКРОТРУБОЧКАМИ

Цель. Цель работы заключалась в исследовании взаимосвязи изменений уровней экспрессии генов кинезинов, потенциально вовлеченных в развитие стресс-индуцированной аутофагии у *Arabidopsis thaliana* с участием микротрубочек, и структурно-биологического анализа роли ацетилювания α -тубулина в регуляции его взаимодействия с белком Atg8, обеспечивающим связь аутофагосом с микротрубочками. **Методы.** Моделирование условий стресс-индуцированной аутофагии. ПЦР-анализ изменения уровней экспрессии генов кинезина. Симмуляция молекулярной динамики комплексов α -тубулина и Atg8 с помощью программы GROMACS 4.5.5. **Результаты.** Выявлен зависимый от воздействия стрессовых факторов характер изменений уровней экспрессии генов кинезинов. Показано существенное повышение транскрипционной активности генов *KIN5B*, *KIN12B*, *KIN12F* под воздействием УФ-В, генов *KIN6*, *KIN7O*, *KIN7D*, *KIN12B* при осмотическом, и *KIN6*, *KIN12B* при солевом стрессах. С помощью биоинформатического анализа продемонстрировано, что ацетилювание α -тубулина обеспечивает усиление взаимодействия α -тубулина и белка Atg8. **Выводы.** Результаты исследования указывают на важную роль кинезинов и ацетилювания α -тубулина в реализации участия микротрубочек в развитии стресс-индуцированной аутофагии у растений. **Ключевые слова:** микротрубочки, α -тубулин, кинезины, белок Atg8, стресс-индуцированная аутофагия.

Аутофагия у растений принимает участие в реализации многих клеточных процессов как при физиологических условиях, так и в ответ на негативное воздействие факторов окружающей среды [1]. Одним из ключевых элементов в опосредовании развития данного адаптивного механизма являются микротрубочки. Ранее роль микротрубочек (МТ) в опосредовании биогенеза

аутофагосом и их внутриклеточного транспорта была показана на клетках животных [2, 3]. В частности, участие МТ в реализации аутофагии обеспечивается изменением их функционального состояния путем посттрансляционного ацетилювания α -тубулина. На культуре клеток HeLa было показано, что стабилизация МТ в результате гиперацетилювания α -тубулина вызывает усиленное вовлечение кинезина-1 и инициацию последующих этапов сигналинга и дальнейшее формирование аутофагосом [2, 3]. Сегодня роль ацетилювания α -тубулина в реализации аутофагии у животных является достаточно хорошо доказанной [4] в сравнении с растениями. Ранее нами уже было показано, что и у растений развитие аутофагии сопровождается усиленным ацетилюванием α -тубулина [5]. Также нами установлено, что при развитии аутофагии, индуцированной воздействием абиотических стрессов, происходит повышение уровней экспрессии генов *elr3* и *hda6*, продукты которых регулируют функциональное состояние МТ путем обратимой реакции ацетилювания α -тубулина [6, 7].

Известно, что моторные белки кинезины, будучи АТФазами, выполняют двунаправленный транспорт органелл и макромолекул вдоль микротрубочек [8], а одним из ключевых элементов в реализации аутофагии в клетках животных является кинезин-1 [2, 3]. Дальнейшие исследования кинезинов растений показали, что они выполняют не только транспортную, но и ряд других жизненно важных функций, в частности таких, как участие в клеточном делении, в росте и морфогенезе клеток [9]. Сегодня для арабидопсиса известен 61 ген кинезинов, однако их функции являются малоизученными [9]. Принимая во внимание данные, свидетельствующие о ключевой роли кинезина-1 в индукции и реализации аутофагии у животных [2, 3], мы предположили наличие кинезинов со сходными функциями у растений. Поэтому целью

© ОЛЕНЕВА В.Д., ЛИТВИН Д.И., ЕМЕЦ А.И., БЛЮМ Я.Б.

данной работы являлось исследование взаимосвязи изменений уровней экспрессии генов кинезинов, потенциально вовлеченных в развитие стресс-индуцированной аутофагии у *A.thaliana* с участием микротрубочек, и структурно-биологического анализа роли ацетилирования α -тубулина в регуляции его взаимодействия с белком Atg8, обеспечивающим связь аутофагосом с микротрубочками.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на 7-дневных проростках *A. thaliana* экотипа Columbia 0. Растения выращивали на среде Мурасиге-Скуга, содержащей 10 г/л сахарозы, pH 5,8. Для моделирования условий голодания проростки выращивали на среде без добавления сахарозы. Условия осмотического и солевого стрессов моделировали, добавляя в среду 150 mM NaCl и 10 mM маннитола соответственно. Растения облучали УФ-В с помощью ультрафиолетовой лампы TL 20W/12RS (Philips, Великобритания) в дозах 41 кДж/м² и 81 кДж/м² в течении 2-х и 4-х часов соответственно. Проростки анализировали сразу после облучения и спустя 3 и 24 часа после облучения.

В экспериментах определяли уровни экспрессии гена кинезин-1 человека (KIN1 (At3g63480), а также его гомологов: KIN5A (At2g28620), KIN5B (At2g37420), KIN5C (At2g36200), KIN5D (At3g45850), KIN6 (At1g20060), KIN7A (At1g18370), KIN7O (At3g10180), KIN7D (At4g39050), KIN10A (At4g14330), KIN12A (At4g14150), KIN12B (At3g23670), KIN12D (At3g19050), KIN12F (At3g20150), KIN14K (At5g41310). С этой целью из 7-дневных проростков выделяли тотальную РНК, получали кДНК и проводили ПЦР-анализ с праймерами к соответствующим генам с последующим анализом продуктов ПЦР в 1%-ном агарозном геле. В качестве контроля для ПЦР использовали уровень экспрессии фактора элонгации α (AtEF α). Уровень экспрессии генов измеряли денситометрически с помощью программы TotalLab. Эксперименты проводили в трех повторах. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 2013.

Для структурно-биологического моделирования взаимодействия α -тубулина и белка Atg8 были использованы продукты генов *tua4* (At1g04820) и *atg8a* (At4g21980), поскольку ранее нами было показано повышение уровней

экспрессии этих генов α -тубулина в ходе развития стресс-индуцированной аутофагии [6, 7]. Структуры белков α -тубулина и Atg8a были предсказаны с помощью сервера Swiss-model protein homology modeling [10]. Для оптимизации геометрии белков перед докинггом было проведено релаксацию данных молекул в водной среде с помощью моделирования молекулярной динамики длительностью 30 нс. Проведение всех этапов минимизации, равновесия и свободной молекулярной динамики осуществляли с помощью программы GROMACS 4.5.5 [11] в силовом поле CHARMM36. Предсказание сайта связывания было проведено в среде PRED-PPI [12] и MetaPPI серверов (<http://projects.biotec.tu-dresden.de/metappi/>). Каждую систему размещали в боксе размером 10 Å, заполненном молекулами воды модели TIP3P. Конечные системы были нейтрализованы путем замены молекул воды ионами Na⁺ и Cl⁻. После каждого моделирования срезы траекторий были кластеризованы, а центроид каждого кластера использовался в качестве релаксированного состояния белка для последующего белок-белкового докинга с помощью сервера Haddock [13] с использованием полугибкой процедуры поиска. Для проверки прогнозов относительно сайта связывания использовали «слепой» докинг, при котором обрабатывается вся поверхность белка.

Результаты и обсуждение

В результате анализа экспрессии генов кинезинов было показано, что через 24 часа после облучения УФ-В в дозе 41 кДж/м² для большинства генов наблюдалось усиление экспрессии (*KIN5B*, *KIN7O*, *KIN7D*, *KIN12B*, *KIN12F*), причем особенно существенно повышались уровни экспрессии генов *KIN5B* и *KIN12F* (рис. 1). Учитывая, что в этом временном интервале при соответствующих экспериментальных условиях в клетках *A. thaliana* происходит активное протекание процессов аутофагии [10], полученные данные позволяют утверждать, что *KIN5B* и *KIN12F* являются вовлеченными в реализацию адаптивного ответа клеток на воздействие УФ-В. Следует отметить, что большинство генов кинезинов имели сниженные уровни экспрессии сразу после облучения и их транскрипционная активность незначительно повышалась через 3 ч после воздействия УФ-В в дозе 41 кДж/м². Также было показано, что в результате облучения УФ-В в дозе

84 кДж/м² уровни экспрессии всех исследуемых генов кинезинов достоверно снижались сразу после облучения, а также через 3 часа после воздействия этого фактора. Через 24 часа после облучения наблюдали аналогичное снижение уровней экспрессии большинства исследуемых

генов. Исключением из этого ряда были гены *KIN5B* и *KIN12B*, уровни экспрессии которых существенно возрастали. Следует отметить, что экспрессии генов *KIN1*, *KIN5A*, *KIN5C*, *KIN5D*, *KIN7A*, *KIN10A* выявлено не было или их экспрессии было невозможно зафиксировать.

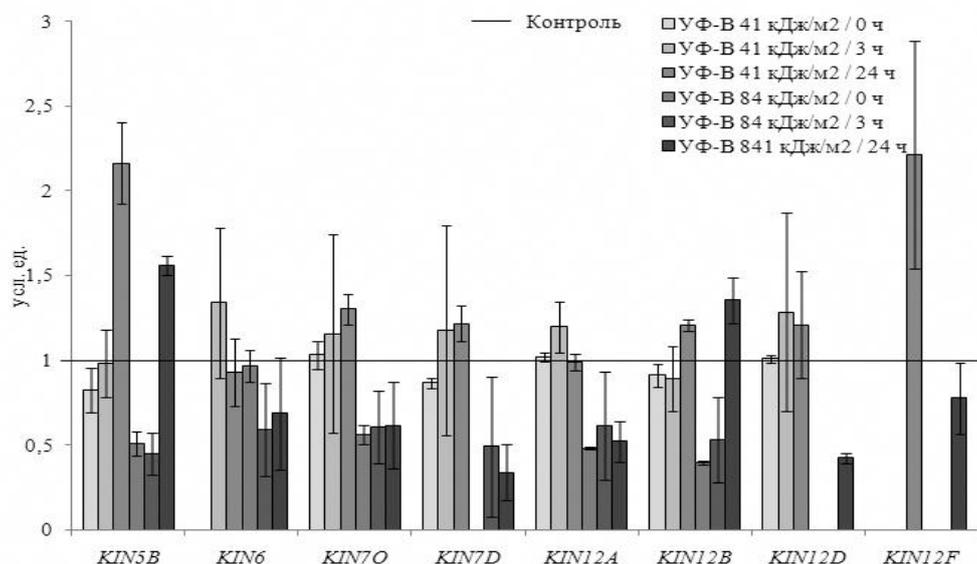


Рис. 1. Транскрипционные профили экспрессии генов кинезинов, гомологов кинезина-1 человека, в контроле и после облучения УФ-В в дозах 41 кДж/м² и 81 кДж/м².

Существенные отличия в экспрессии генов кинезинов в проростках *A. thaliana*, подвергшихся влиянию различных абиотических стрессов (голодание, солевой или осмотический стресс), иллюстрируют тот факт, что механизмы индукции и реализации аутофагии в клетках растений могут отличаться в зависимости от вида стрессового фактора (рис. 2). В частности, показано, что процессы аутофагии, индуцированной осмотическим стрессом, вероятно, опосредуются продуктами генов *KIN6*, *KIN7O*, *KIN7D*, *KIN12B*, уровни экспрессии которых существенно повышались. В случае голодания практически для всех исследуемых генов отмечено снижение транскрипционной активности, и только уровень экспрессии гена *KIN6* оставался в пределах контроля. Добавление в питательную среду 150 mM NaCl приводило к снижению уровней экспрессии генов *KIN5B*, *KIN7D*, *KIN12A*, *KIN12F*, в то время как для генов *KIN6* и *KIN12B* характерным было повышение уровней экспрессии.

Полученные профили экспрессии исследуемых генов кинезинов хотя и не являются сами по себе доказательствами взаимодействия

кинезинов с микротрубочками и аутофагосомами, однако косвенно могут свидетельствовать об участии конкретных кинезинов в реализации аутофагии, индуцированной определенным абиотическим фактором. В частности, данные результаты позволяют предположить вовлечение продуктов генов *KIN5B*, *KIN7O*, *KIN7D*, *KIN12F* в реализацию аутофагии, индуцированной УФ-В; а также позволяют допустить участие *KIN6*, *KIN12B*- и *KIN6*, *KIN7O*, *KIN7D*, *KIN12B* в развитии адаптивного ответа на воздействие солевого и осмотического стрессов, соответственно.

Принимая во внимание различную чувствительность клеток растений к влиянию стрессовых факторов, их типу и характеру воздействия, мы можем предположить возможные временные рамки развития аутофагии для клеток растений. В частности, процессы аутофагии, индуцированной УФ-В, в среднем начинают проявляться спустя несколько часов после облучения и интенсивно развиваются в течение 24 часа после воздействия стресса. Более того, ранее нами было показано, что через сутки после облучения количество клеток в состоянии

программируемой клеточной гибели стремительно возрастает [14], что указывает на возможную взаимосвязь процессов аутофагии и программируемой клеточной гибели.

Ранее было продемонстрировано, что ацетилирование тубулина само по себе не влияет на скорость и длину пробега кинезина-1 вдоль МТ в системе *in vitro* [15], однако ацетилированные МТ предпочтительнее собираются в пучки, приводя к усилению подвижности этого транспортного белка [16]. Поэтому нам казалось логичным также проверить потенциальное влияние ацетилирования на взаимодействие α -тубулина с белком Atg8. Первоначально для сравнения особенностей взаимодействия не- и ацетилированного α -тубулина с белком Atg8 была реконструирована модель взаимодействия неацетилированного α -тубулина с белком Atg8a (рис. 3).

На последующих этапах работы была выполнена попытка сравнить параметры молеку-

лярной динамики взаимодействия белка Atg8a в комплексе с немодифицированным α -тубулином, а также с молекулами α -тубулина, ацетилированными по аминокислотным остаткам Лиз-40 и Лиз-112. Было показано, что ацетилирование положительно заряженной молекулы α -тубулина снижает ее основность. Таким образом, ацетилирование α -тубулина в целом смещает общую картину распределения заряда и подвижности некоторых аминокислотных остатков. Результаты расчета свободной молекулярной динамики в течении 50 нм свидетельствуют о стерических изменениях в области связывания молекул и C-концевой петли α -тубулина, что приводит к диссоциации белка Atg8a из комплекса в течении последних наносекунд молекулярной динамики. На Рис. 4 продемонстрированы различия в состояниях связывания в комплексах Atg8a с не- и ацетилированным α -тубулином.

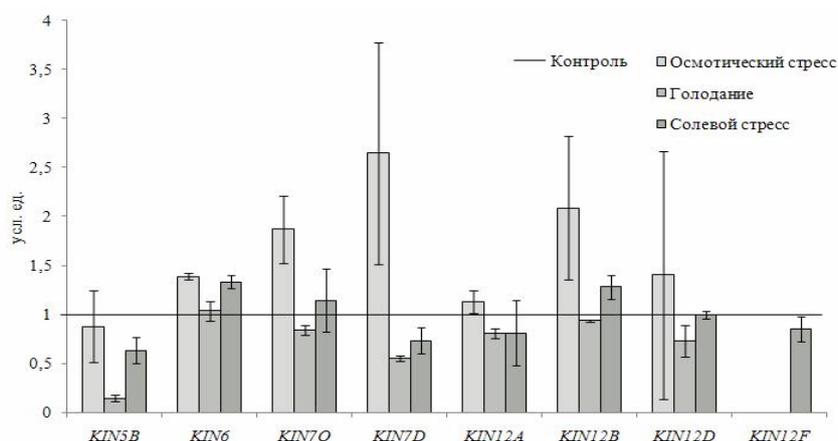


Рис. 2. Транскрипционные профили экспрессии генов кинезинов, гомологов кинезина-1 человека, в контроле и под воздействием голодания, осмотического или солевого стрессов.

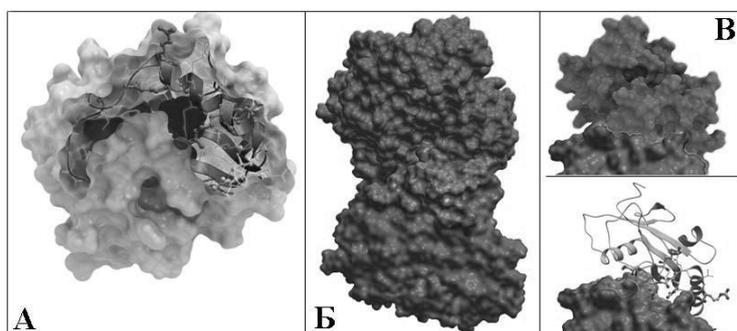


Рис. 3. Структуры белков Atg8a и димера α - и β -тубулинов и модели взаимодействия неацетилированного α -тубулина с белком Atg8a: А – возможный сайт связывания на N-конце молекулы белка Atg8a (лента синего цвета), оранжевым цветом обозначены аминокислотные остатки, схожие с гомологом Atg8 – LC3 человека; Б – субъединицы α - и β -тубулинов из *A. thaliana* с предсказанным сайтом связывания, (светло-зеленый цвет); В – поверхность и ленточный тип отображения белка Atg8a (желтый цвет), связанного с молекулой α -тубулина (темно-синий цвет) через предсказанный сайт связывания (светло-зеленый цвет).

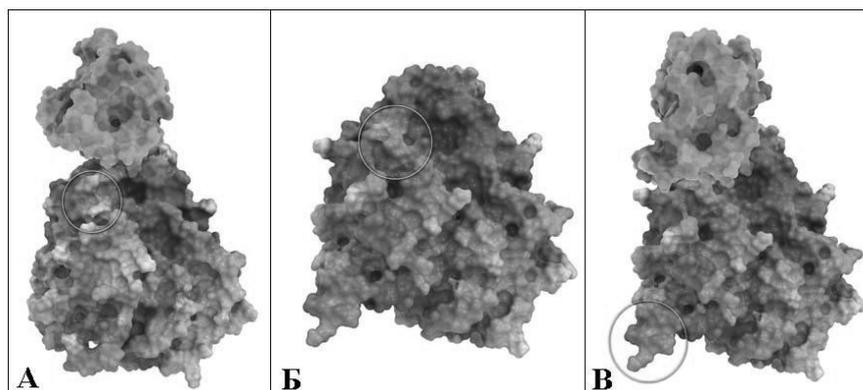


Рис. 4. Фронтальный вид комплексов Atg8α-α-тубулина: А – немодифицированный α-тубулин; Б, В – ацетилованный α-тубулин по Лиз-112 (Б) и Лиз-40 (В). Белок Atg8α (синего цвета) более тесно связан с ацетилованной формой α-тубулина.

Результаты структурно-биологических исследований влияния ацетилирования Лиз-40 молекулы α-тубулина свидетельствуют об отсутствии сопряженных с этой модификацией структурных изменений тубулина и МТ [17], но в то же время ацетилирование по этому остатку делает МТ более стабильными и устойчивыми к механическому воздействию [18]. Хотя у растений другие сайты ацетилирования субъединиц тубулина еще экспериментально не установлены, остаток Лиз-112 в молекуле α-тубулина является одним из наиболее вероятных кандидатов на эту роль, исходя из закономерностей ацетилирования тубулина в клетках других эукариот [19]. Поэтому совместное ацетилирование остатков Лиз-40 и Лиз-112 может объяснять более эффективное влияние этой модификации на взаимодействие белка Atg8 с МТ.

В целом полученные результаты можно объяснить фактом, что немодифицированный лизин является менее гибким в сравнении с ацетилованной формой, что в сумме с положительным зарядом предотвращает тесное взаимодействие двух белков и облегчает процесс их диссоциации. В свою очередь, ацетилирование остатков лизина α-тубулина снижает положительный заряд молекулы и приводит к образованию водородных связей с окружающими аминокислотами и, следовательно, к тесному контакту с поверхностью его молекулы. Связывание водорода, происходящее идентично в начале молекулярной динамики для обоих комплексов, со временем неуклонно уменьшалось для не-

модифицированного α-тубулина. Более того, было показано, что N-конечная спираль белка Atg8α со временем отталкивалась от немодифицированного α-тубулина (данные не представлены).

Выводы

Полученные профили экспрессии генов кинезинов свидетельствуют о стресс-зависимом характере изменений их транскрипционной активности и косвенно указывают на возможность участия конкретных моторных белков в реализации аутофагии, индуцированной определенным абиотическим фактором. В частности, было показано существенное повышение транскрипционной активности генов KIN5B, KIN12B, KIN12F под воздействием облучения УФ-В, генов KIN6, KIN7O, KIN7D, KIN12B при осмотическом, и KIN6, KIN12B при солевом стрессе.

С помощью структурно-биологического анализа взаимодействия α-тубулина и Atg8α было выявлено, что ацетилирование α-тубулина обеспечивает более плотное взаимодействие молекул указанных белков путем изменения заряда и гибкости остатков α-тубулина в сайте связывания молекул. Полученные данные также опосредованно подтверждают роль МТ в реализации стресс-индуцированной аутофагии посредством изменения их функционального состояния и белкового микроокружения, а также регуляции транспорта зрелых аутофагосом и аутолизосом.

Литература

1. Wang P., Mugume Y., Bassham D.C. New advances in autophagy in plants: Regulation, selectivity and function. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2017. pii: S1084-9521(17)30129-5. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.018.

2. Mackeh R., Perdiz D., Lorin S., Codogno P., Poüs C. Autophagy and microtubules - new story, old players, *J. Cell Sci.* 2013. Vol. 126. P. 1071–1080. doi: 10.1242/jcs.115626.
3. Monastyrska I., Rieter E., Klionsky D.J., Reggiori F. Multiple roles of the cytoskeleton in autophagy. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2009. Vol. 84 (3). P. 431–448. doi: 10.1111/j.1469-185X.2009.00082.x.
4. Perdiz D., Mackeh R., Poüs C., Baillet A. The ins and outs of tubulin acetylation: More than just a post-translational modification? *Cell. Signal.* 2011. Vol. 23 (5). P. 763–771. doi: 10.1016/j.cellsig.2010.10.014.
5. Olenieva V., Lytvyn D., Yemets A., Bergounioux C., Blume Y. Tubulin acetylation accompanies autophagy development induced by different abiotic stimuli in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Biol. Int.* 2017. doi: 10.1002/cbin.10842.
6. Olenieva V., Lytvyn D., Yemets A., Blume Ya.B. Influence of UV-B on expression profiles of genes involved in the development of autophagy by means of microtubules. *Reports Natl. Acad. Sci. Ukraine.* 2018. Vol. 1. P. 100–109 (in Ukr).
7. Olenieva V., Lytvyn D., Yemets A., Blume Ya.B. Influence of sucrose starvation, osmotic and salt stresses on expression profiles of genes involved in the development of autophagy by means of microtubules, *The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine*, 2018. Vol. 16 (2). P. 174–180.
8. Endow S.A. Determinants of molecular motor directionality. *Nat Cell Biol.* 1999. Vol. 1 (6). P. 163–167. doi: 10.1038/14113.
9. Li J., Xu Y., Chong K. The novel functions of kinesin motor proteins in plants. *Protoplasma.* 2012. Vol. 249. P. S95–100. doi: 10.1007/s00709-011-0357-3.
10. Biasini M., Bienert S., Waterhouse A., Arnold K., Studer G., Schmidt T., Kiefer F., Gallo Cassarino T., Bertoni M., Bordoli L., Schwede T. SWISS-MODEL: modeling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42. P. W252–258. doi: 10.1093/nar/gku340.
11. Kutzner C., Páll S., Fechner M., Esztermann A., De Groot B. L., Grubmüller H. Best bang for your buck: GPU nodes for GROMACS biomolecular simulations. *J. Comput. Chem.* 2015. Vol. 36 (26). P. 1990–2008. doi: 10.1002/jcc.24030.
12. Guo Y., Li M., Pu X., Li G., Guang X., Xiong W., Li J. PRED_PPI: a server for predicting protein-protein interactions based on sequence data with probability assignment. *BMC Res Notes.* 2010. Vol. 3 (1). P. 145. doi: 10.1186/1756-0500-3-145.
13. Dominguez C., Boelens R., Bonvin A.M. HADDOCK: a protein-protein docking approach based on biochemical or biophysical information. *J Am Chem Soc.* 2003. Vol. 125 (7). P. 1731–1737. doi: 10.1021/ja026939x.
14. Fedyna V.D., Lytvyn D.I., Blume Y.B. α The role of microtubules in the development of plant autophagy, induced by abiotic stresses. *Factors Exp. Evol. Organisms.* 2016. Vol. 19. P. 47–49 (in Ukr.).
15. Walter W.J., Beránek V., Fischermeier E., Diez S. tubulin acetylation alone does not affect kinesin-1 velocity and run length *in vitro*. *PLoS ONE.* 2012. Vol. 7 (8). e42218. doi: 10.1371/journal.pone.0042218.
16. Balabanian L., Berger C.L., Hendricks A.G. Acetylated microtubules are preferentially bundled leading to enhanced kinesin-1 motility. *Biophys. J.* 2017. Vol. 113 (7). P. 1551–1560.
17. Howes S.C., Alushin G.M., Shida T., Nachury M.V., Nogales E.. Effects of tubulin acetylation and tubulin acetyltransferase binding on microtubule structure. *Mol. Biol Cell.* 2014. Vol. 25 (2). P. 257–266.
18. Janke C., Montagnac G. Causes and consequences of microtubule acetylation. *Curr. Biol.* 2017. Vol. 27 (23). P. R1287–R1292.
19. Sadoul K., Khochbin S. The growing landscape of tubulin acetylation: lysine 40 and many more. *Biochem. J.* 2016. Vol. 473. P. 1859–1868.

OLENIEVA V.D., LYTUVYN D.I., YEMETS A.I., BLUME Ya.B.

*Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine,
Ukraine, 04123, Kyiv, Osipovskogo str., 2a, e-mail: olenieva.vira@gmail.com*

EXPRESSION PROFILING OF KINESINS, INVOLVED IN THE DEVELOPMENT OF AUTOPHAGY IN *ARABIDOPSIS THALIANA*, AND THE ROLE OF TUBULIN ACETYLATION IN THE INTERACTION OF ATG8 PROTEIN WITH MICROTUBULES

Aim. To investigate the interrelation between changes in the expression levels of kinesin genes that are potentially involved in the development of stress-induced autophagy in *Arabidopsis thaliana* by means of microtubules, and the structural biology analysis of the role of α -tubulin acetylation in the regulation of interaction of α -tubulin with Atg8.

Methods. The simulation of the influence of abiotic stresses. PCR analysis of changes in expression levels of kinesin genes. The molecular dynamics simulations of α -tubulin and Atg8 complexes were performed using the GROMACS 4.5.5 program. **Results.** It was shown that the changes in expression levels were caused by the influence of stressful stimuli. A significant increase in the transcriptional activity of the *KIN5B*, *KIN12B*, *KIN12F* genes after UV-B irradiation, the *KIN6*, *KIN70*, *KIN7D*, *KIN12B* genes under osmotic-, and *KIN6*, *KIN12B* under salt stress was detected. By means of bioinformatics it was demonstrated that α -tubulin acetylation provides an enhanced interaction of α -tubulin and Atg8 protein. **Conclusions.** Obtained data point out the important role of kinesins and α -tubulin acetylation in realization of microtubules' partaking in the development of stress-induced autophagy in plants.

Keywords: microtubules, α -tubulin, kinesins, Atg8 protein, stress-induced autophagy.

ОЛЕНЕВА В.Д., ЛИТВИН Д.И., ЄМЕЦЬ А.И., БЛЮМ Я.Б.

Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,

Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а, e-mail: olenieva.vira@gmail.com

ЕКСПРЕСІЯ КІНЕЗИНІВ, ЗАЛУЧЕНИХ ДО РОЗВИТКУ АУТФОАГІЇ У *ARABIDOPSIS THALIANA*, ТА ВНЕСОК АЦЕТИЛЮВАННЯ ТУБУЛІНУ У ВЗАЄМОДІЮ БІЛКА ATG8 З МІКРОТРУБОЧКАМИ

Мета. Мета роботи полягала у дослідженні взаємозв'язку змін рівнів експресії генів кінезинів, потенційно залучених до розвитку стрес-індукованої аутофагії у *Arabidopsis thaliana* за участю мікротрубочок, та структурно-біологічного аналізу ролі ацетилювання α -тубуліну у регуляції його взаємодії з Atg8. **Методи.** Моделювання умов стрес-індукованої аутофагії. ПЛР-аналіз змін рівнів експресії генів кінезину. Симуляція молекулярної динаміки комплексів α -тубуліну і Atg8 за допомогою програми GROMACS 4.5.5. **Результати.** Виявлено залежний від впливу стресових факторів характер змін рівнів експресії генів кінезин. Показано суттєве підвищення транскрипційної активності генів *KIN5B*, *KIN12B*, *KIN12F* під впливом УФ-В, генів *KIN6*, *KIN7O*, *KIN7D*, *KIN12B* при осмотичному-, та *KIN6*, *KIN12B* при сольовому стресах. За допомогою біоінформатичного аналізу продемонстровано, що ацетилювання α -тубуліну забезпечує посилення взаємодії α -тубуліну і білка Atg8. **Висновки.** Результати дослідження вказують на важливу роль кінезинів і ацетилювання α -тубуліну у реалізації участі мікротрубочок у розвитку стрес-індукованої аутофагії у рослин.

Ключові слова: мікротрубочки, α -тубулін, кінезини, білок Atg8, стрес-індукована аутофагія.